

高效液相色谱法测定植物性样品中三聚氰胺的含量

张艳萍,俞远志,傅晓航

(浙江科技学院 生物与化学工程学院, 浙江 杭州 310012)

摘要:建立了高效液相色谱法检测植物性样品中三聚氰胺的方法。样品由1%三氯乙酸—乙腈超声提取,加入蛋白沉淀剂进行纯化。色谱柱 ZORBAX SB - Aq (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为磷酸 - 三乙胺溶液,流速为 0.6 mL/min 检测波长为 240 nm,回收率为 89.8% ~ 91.1%,相对标准偏差在 0.75% ~ 1.60% 之间。

关键词:三聚氰胺;植物性制品;高效液相色谱法

中图分类号:TQ 245.2⁺7 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2009)06-0037-03

Determination of melamine in vegetable products by HPLC

ZHANG Yan-ping, YU Yuan-zhi, FU Xiao-hang

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou Zhejiang 310012)

Abstract: An analytical method for detecting melamine in vegetable materials by HPLC was established. Samples were extracted by ultrasonic extraction with 10% TCA - acetonitrile and purified by protein precipitator. The HPLC conditions: ZORBAX SB - Aq (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), phosphoric acid - triethylamine as mobile phase and UV detection at 0.6 mL/min with wavelength 240nm. The recovery rate were 89.8% ~ 91.1% and RSD was 0.75% ~ 1.60%.

Key words: melamine; vegetable product; HPLC

三聚氰胺(melamine)简称三胺,学名三氨基三嗪,别名蜜胺、氰尿酸胺、三聚酰胺,主要用于生产三聚氰胺—甲醛树脂^[1]。是一种重要的氮杂环有机化工原料,广泛用于木材、塑料、涂料、造纸、纺织、医药等行业^[2]。

有关食品及饲料制品中添加三聚氰胺的事件最初报道于我国出口到美国的小麦蛋白粉和大米蛋白浓缩物所引起的宠物中毒事件,国家质检总局积极应对,要求对列入法检目录的出口植物源性蛋白及其辅料进行检测。而后,爆发于我国部分幼儿奶粉所引发的尿结石事件再次使三聚氰胺的检测成为关注热点。我国已经发布了有关原料乳及乳制品中三聚氰胺的检测标准,但是,检测成本较高。因此,开发一些低成本的检测方法,满足大多数食品及饲料生产企业的日常检测需要,是我们需解决的问题。本文建立了 HPLC 法测定植物性原料中三聚氰胺的含量,该方法简便、快速,成本较低,适合于中小企业的日常检测。

收稿日期:2009-05-18

基金项目:浙江省分析测试基金项目(2007F70004)

作者简介:张艳萍(1976-),女,甘肃人,工程师。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

1.1.1 仪器和设备

Waters 2695 - 2996 液相色谱仪;AL204 电子天平(梅特勒仪器有限公司);FE20 pH 计(梅特勒仪器有限公司);XW - 80A 旋涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);SK7200LHC 超声清洗器(上海科导超声仪器有限公司);RC - 6 Plus 高速离心机(美国热电仪器有限公司)。

1.1.2 试剂

三聚氰胺由杭州捷尔斯阻燃化工有限公司提供;甲醇、乙腈、辛酸磺酸钠、三乙胺为色谱级;三氯乙酸、柠檬酸、盐酸为分析纯;水为 Millipore 超纯水,样品:面粉、米粉、藕粉、大豆粉均购于杭州联华超市。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的处理

准确称取 2 g 上述四种样品于 50 mL 离心管中,分别加入 1% 三氯乙酸 10 mL 和乙腈 10 mL,超声提取 10 min,再在旋涡混合器上振荡提取 10 min 后,以 5000 r/min 离心 10 min。取上清液 10 mL 各二份,分别加入 2 mL 10% 亚铁氰化钾及乙酸锌溶液,振荡

混合后,静置 30 min,经三氯乙酸溶液润湿的滤纸过滤后,用水定容到 25 mL。过 0.45 μm 滤膜后,在 HPLC 上分析测定。

1.2.2 液相色谱条件

色谱柱:ZORBAX SB - Aq (250 mm ×4.6 mm, d. , 5 μm);流动相:磷酸 - 三乙胺溶液(0.01 mol/L 磷酸溶液,用三乙胺调节溶液 pH=3 即可);流速:0.6 mL/min;进样体积:10 μL;柱温:室温(约 15)。

2 结果与讨论

2.1 提取方法的选择

在实验中,尝试用甲醇、甲醇-水、乙腈、乙腈-水、1%的三氯乙酸等试剂进行了提取,并进行 HPLC 分析。结果表明:单纯的有机相并不能完全将制品中的三聚氰胺提取出来,而且提取液的杂质含量较高。甲醇-水提取液则比较浑浊,即使经离心及 0.22 μm 滤膜过滤后,仍不能得到改善。最终,选定用 1%三氯乙酸-乙腈作为提取溶剂,采取超声、漩涡提取等方法保证提取完全。

2.2 检测波长确定

通过二极管阵列检测器波长扫描,三聚氰胺在 215、240 nm 处均有最大吸收,但 215 nm 处干扰较大,因此,选择 240 nm 作为测定乳制品中三聚氰胺的检测波长。

2.3 流动相的选择

根据文献报道,分别对氨水-高氯酸(pH=6.5)^[3]、乙酸锌溶液-乙腈(90:10)、柠檬酸-辛烷磺酸钠(pH=3) 乙腈(9:1)^[4]、磷酸-三乙胺溶液(pH=3)等作为流动相进行了试验。其中,氨水-高氯酸及乙酸锌-乙腈体系均不能得到良好的峰形或分离度,而柠檬酸-辛烷磺酸钠体系则由于温度对保留的影响过于显著,导致保留时间不能良好重现。因此,本实验选用磷酸-三乙胺溶液(pH=3)作为流动相。由于纯水体系对于常规 C₁₈ 柱的不良影响,最终实验选用 ZORBAX SB - Aq 色谱柱。在此条件下,三聚氰胺的标准色谱图如图 1 所示。

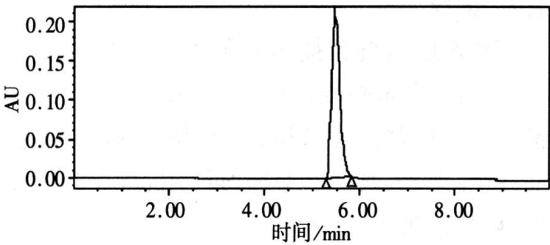
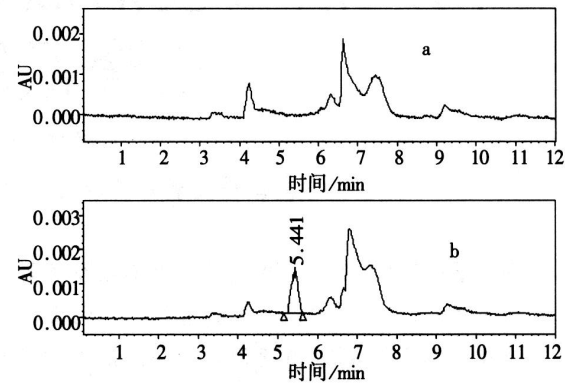


图 1 三聚氰胺的标准溶液色谱图

2.4 纯化方法的选择

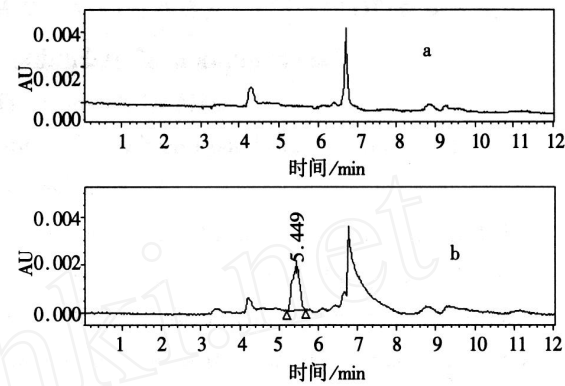
对于食品原料而言,经提取溶液提取后,较高含量的蛋白质成为干扰测定的因素。因此,本实验采取加入蛋白质沉淀剂的方法,来消除可能的干扰,实验证明,相比常用的 SPE 萃取净化方式,这种纯化

方法具有简便、经济等优势。面粉、米粉、藕粉、大豆粉的色谱图分别见图 2~图 5。



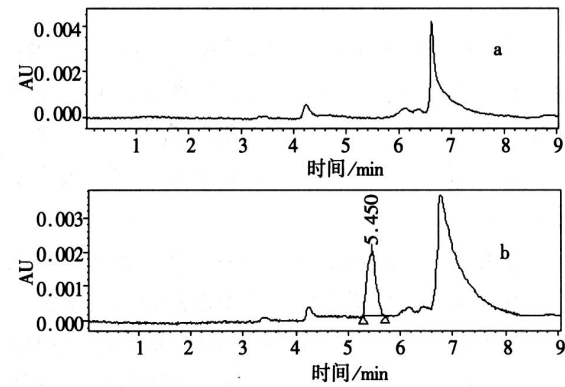
a. 空白样品, b. 加标样品。

图 2 面粉样品及加标色谱图



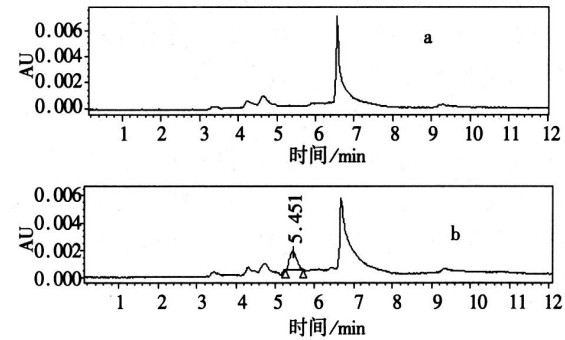
a. 空白样品, b. 加标样品。

图 3 米粉样品及加标色谱图



a. 空白样品, b. 加标样品。

图 4 大豆粉样品及加标色谱图



a. 空白样品, b. 加标样品。

图 5 藕粉样品及加标色谱图

2.5 线性关系的考察

以外标法进行定量,配制三聚氰胺标准系列 0.8、2、20、40、80 μg/mL,分别进样 10 μL,所得如图 6 所示实验结果。

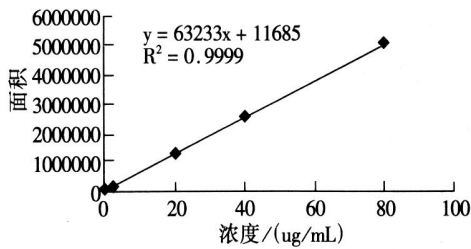


图 6 三聚氰胺标准曲线

2.6 回收率及精密度实验

用所购买豆粉进行加标实验,计算回收率。分别进行五个水平的加标,每个水平平行测定 5 次,结果见表 1。

表 1 豆粉样品中三聚氰胺回收率 %

| 添加水平 /(mg/kg) | 测定值 | | | | | 平均值 | 相对标准 偏差 RSD |
|------------------|------|------|------|------|------|------|----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 10 | 89.8 | 91.6 | 89.2 | 91.9 | 90.4 | 90.6 | 1.04 |
| 20 | 89.9 | 90.1 | 92.4 | 89.5 | 88.7 | 90.1 | 1.00 |
| 30 | 91.1 | 90.4 | 89.7 | 88.9 | 90.6 | 90.1 | 0.75 |
| 40 | 91.4 | 92.2 | 90.7 | 91.8 | 89.6 | 91.1 | 0.88 |
| 50 | 90.6 | 89.1 | 91.7 | 88.6 | 89.2 | 89.8 | 1.60 |

由表 1 可以看出,当添加水平在 10.0 ~ 50.0 mg/kg 范围内,回收率在 89.8 % ~ 91.1 % 之间,能够满足常规检测的需要。回收率结果偏低的原因可能是固体样品中三聚氰胺提取不完全所致。测定的相对标准偏差在 0.75 % ~ 1.60 % 之间,具有较好的重

现性,精密度较高。

2.7 最低检测限

以信噪比 S/N = 3 计算,在上述实验条件下,三聚氰胺的检测限 8.0 ng。

2.8 样品分析

对市售的面粉、米粉、藕粉、大豆粉等样品分别按照实验方法进行测定,均未检出三聚氰胺。

3 结论

本研究中所确定的检测方法用于各种植物性样品及原料等的日常检测,具有检测成本低、检测效率高以及操作简单等特点。同时,对于此方法在乳制品及含乳饮料中的应用,也已经做了系统的研究,结果表明,此方法也同时能够应用于乳制品中三聚氰胺的检测。但对于此方法在其他样品如蛋制品、水产品等样品中的应用,仍有待于进一步的研究。除此之外,从分离图谱上可以看出,样品中基质与三聚氰胺能够完全分离,但基质峰的保留时间与三聚氰胺较为接近,因此,在后续的实验中,我们将对方法本身进行相应的完善与优化。

参考文献:

[1] 宫小明,董静,孙军,王洪涛,等. HPLC 法测定植物性原料中三聚氰胺[J]. 食品科学,2008,29(4):321-323.
[2] 李德良. 食品及饲料中三聚氰胺残留量液相色谱检测方法的研究[J]. 南昌高专学报,2007,73(6):131-135.
[3] 吴明礼,陈彩虹. 高效液相色谱法(HPLC)测定单氰胺中三聚氰胺的含量[J]. 宁夏石油化工,2005,(2):24-26.
[4] GB/T 22388—2008,原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[S].

完

中国油脂

邮发代号52-129 (月刊)

- 中国科学引文数据库核心期刊
- 第二、三届国家期刊奖百种重点期刊
- 中文核心期刊
- 中国精品科技期刊
- 中国科技核心期刊
- 中国期刊方阵双效期刊
- 中国科技论文统计源期刊
- 中国学术期刊综合评价数据库来源期刊
- 美国《化学文摘》(CA) 收录期刊
- 俄罗斯《文摘杂志》(AJ) 收录期刊
- 美国《剑桥科学文摘》(CSA) 收录期刊
- 日本《科学技术文献速报》(CBST) 收录期刊

《中国油脂》集科学性、权威性、创新性、指导性、应用性于一体,宣传报道油脂行业最新研究应用成果,关注行业发展热点问题,内容丰富,信息量大,实用性强。

主要栏目:油脂加工/油厂建设/副产品综合利用/油料蛋白开发利用/油脂化工/油脂储藏/油脂检验/油脂安全与营养/新油源开发/特种油脂开发/油脂标准/节能与环保/实用技术,设有各种特色专栏,发布产品广告等。

《中国油脂》国内外公开发行,每期7.5元,全年90元。我社亦办理订阅和逾期补订手续。

地址:陕西省西安市劳动路118号 邮编:710082
电话:029-88653157 传真:029-88625310
E-mail:zyzz@chinajournal.net.cn
http://www.chinaoils.cn

2010年《中国粮食经济》

征订及广告招商全面启动

订约热线:010-66094306 广告垂询:010-66019181

- ◆ 国家粮食局机关刊物
- ◆ 中国粮食经济学会会刊
- ◆ 中央储备粮代储资格认定信息指定发布媒体
- ◆ 全国粮食购销数据指定发布媒体
- ◆ 中国学术期刊全文数据库收录期刊
- ◆ 中国学术期刊综合评价数据库来源期刊
- ◆ 万方数据中国数字化期刊群收录期刊
- ◆ 中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊

《中国粮食经济》旨在宣传党中央、国务院粮食工作方针政策,传达国家粮食行政主管部门工作部署,探讨粮食经济理论,服务行政管理和理论研究工作;分析国内外粮油形势,传递粮油政策、价格和市场信息,交流粮食工作经验,介绍先进粮食企业和优秀粮食职工,服务粮食企业;交流探讨农业、粮食信贷工作,服务农业和金融工作;介绍饮食、保健、营养等常识,服务读者业余生活。

《中国粮食经济》为月刊,大16开,64页。每期定价7.50元,全年定价90.00(含邮费)。

《中国粮食经济》为自办发行,请登录中国粮食经济网(www.zglssjj.com)订阅或直接拨打订约热线订约。

社址:北京市复兴门内大街45 邮编:100801